

P. 319–329.

Sokolov, S. Ia. (1957). Sovremennoe sostoianie teorii akklimatizatsii i introduktsii rastenii. *Introduktsiia rastenii i zelenoe stroitel' stvo*. Ser. 6. Vyp. 5. S. 34–42.

Soriano, J. M., Pecchioli, S., Romero, C., Vilanova, S., Llacer, G., Giordani, E., & Badenes, M. L. (2006). Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* L. f.) from an enriched genomic library. *Molecular Ecology Notes*. Vol. 6. № 2. P. 368–370.

*State register of plant varieties, suitable for dissemination in Ukraine in 2015*. (2015). Kyiv. 324 p. URL: <http://www.minagro.gov.ua/rating/files/r2.pdf> (Accessed 25 January 2018). (in Ukrainian).

*State register of plant varieties, suitable for dissemination in Ukraine in 2018*. (2018). Kyiv. 467 p. URL: <http://sops.gov.ua/reestr-sortiv-roslin> (Accessed 4 September 2018). (in Ukrainian).

The spice of life indicators 2.5.1 and 2.5.2. (2017). *FAO and the SDGs Indicators: Measuring up to the 2030 Agenda for Sustainable Development*. P. 22–23. URL: <http://www.fao.org/3/a-i6919e.pdf> (Accessed 28 November 2017).

Tumanov, I. I. (1979). *The physiology of hardening and frost resistance of plants*. Moscow: Science. 359 p. (in Russian).

UPOV (2004). *Working Paper on Test Wide Lines for Diospyros kaki L. f. TG/92/4*. Geneva, Switzerland: UPOV.

Veberic, R., Jurhar, J., Mikulic-Petkovsek, M., Stampar, F. & Schmitzer, V. (2010). Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*. Vol. 119. № 2. P. 477–483.

Yeshchenko, V. O., Kopytko, P. H., Kostohryz, P. V., & Opryshko, V. P. (2014). *Osnovy naukovykh doslidzhen v ahronomii*: Pidruchnyk. Vinnytsia: PP «TD «Edelweis i K»». 332 s. (in Ukrainian).

Yilmaz, B., Genc, A., Cimen, B., Incesu, M., & YEŞİLOĞLU, T. (2017). Characterization of morphological traits of local and global persimmon varieties and genotypes collected from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 41. № 2. P. 93–102. (тут *Diospyros kaki* L.) DOI: 10.3906/tar-1611-27.

Zhao, D., Zhou, C., Kong, F., & Tao, J. (2011). Cloning of phytoene desaturase and expression analysis of carotenogenic genes in persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruits. *Molecular biology reports*. Vol. 38. № 6. P. 3935–3943.

УДК 633.584.3:631.589

## Вирощування садивного матеріалу *Salix L. in vitro*

Любов П. Іщук

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна, e-mail.: ishchuk29@gmail.com

ORCID ID0000-0003-2150-0672

### Реферат.

**Мета.** Сучасною альтернативою традиційним методам розмноження рослин є культура в умовах *in vitro*, що дає змогу отримати потрібну кількість генетично однорідного оздоровленого садивного матеріалу упродовж року незалежно від вегетаційного періоду. У зв'язку з плантаційним вирощування видів роду *Salix L.* для одержання

рослинної біомаси на пелети, розробка і вдосконалення прийомів мікроклонального розмноження видів і сортів цього роду є перспективною і актуальною. Тому метою наших досліджень була розробка методів для зберігання, довготривалого підтримання в колекції *in vitro* та швидкого розмноження в промислових об'ємах садивного матеріалу *S. viminalis* L. і 'Inger' (*S. viminalis* × *S. triandra* L.). **Методи.** Експланти культивували за загальноприйнятою методикою на живильному безгормональному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга у власній модифікації зі змінами в кількості бензиламінопурину, хелатного заліза та активованого вугілля. Аналіз отриманих результатів проводили статистичними методами. **Результати.** Отримані результати показали, що при введенні *in vitro* *S. viminalis* і її гібридного сорту 'Inger' стерилізацію доцільно проводити шляхом додавання у середовище деконтамінанту Plant Preservative Mixture. Інтенсивне коренеутворення і максимальний коефіцієнт розмноження для *S. viminalis* складає 4,4, а для її сорту 'Inger' — 6,2 за концентрації бензиламінопурину 0,2 мг/л. На основі отриманих результатів для отримання здорового садивного матеріалу ми пропонуємо модифікаційні зміни до пропису середовища Мурасіге і Скуга. На етапі розмноження слід додавати у середовище 0,2 мг/л бензиламінопурину, 1 мг/л AgNO<sub>3</sub>, та збільшити вміст хелатного заліза до 41,67 мг/л, а на етапі коренеутворення необхідно додати 1,0 мг/л AgNO<sub>3</sub>, 1,0 г/л активованого вугілля та 0,2–0,5 мг/л індоліл-масляної кислоти. **Висновки.** Таким чином, застосовуючи деконтамінант Plant Preservative Mixture і гормон бензиламінопурин та модифікаційні зміни пропису середовища Мурасіге і Скуга можна досягти у короткий термін масового розмноження *S. viminalis* і її гібридного сорту 'Inger' для створення енергетичних плантацій.

*Ключові слова:* *Salix viminalis*, 'Inger', верба, експланти, деконтамінант, гормон, бензиламінопурин, хелатне залізо.

## Cultivation of *Salix* L. Planting Stock *in vitro*

Ljubov P. Ishchuk

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine, e-mail.: ishchuk29@gmail.com

ORCID ID0000-0003-2150-0672

### Abstract.

**Aims.** Today's alternative to traditional methods of plant reproduction is a cultivation in terms of *in vitro*, which enables to obtain the required amount of genetically homogeneous well-groomed seedlings throughout the year regardless of the growing season. In the plantation cultivation of species of *Salix* L genus to obtain plant biomass on pellets, the development and improvement of methods of microclonal reproduction of species and cultivars of this genus are prospective and relevant. Therefore, the aim of the research is to develop the methods for storage and long-term maintenance in the *in vitro* collection and rapid reproduction in the industrial volumes of the planting stock of *S. viminalis* L. and 'Inger' (*S. viminalis* × *S. triandra* L.). **Methods.** The explants had been cultivated according to the generally accepted method in a nutritious and nonhormonal *in vitro*, using the medium of Murashige and Skoog in their own modifications with changes in the amount of benzylaminopurine, Fe-chelate and activated carbon. The analysis of the obtained results was carried out by statistical methods. **Results.** The obtained results showed that while insertion of the hybrid cultivars 'Inger' to *in vitro* *S. viminalis*, sterilization should be done by adding Plant Preservative Mixture decontaminant *in vitro*. Intensive root formation and maximum reproduction factor for *S. viminalis* are 4,4, and for its cultivar 'Inger' is 6,2 with the concentration of 0,2 mg/l benzylaminopurine. Based on the obtained results, modification changes to the medium of Murashige and Skoog's *in vitro* are required in order to receive a healthy planting stock. At the stage of reproduction it is necessary to add 0,2 mg/l of benzylaminopurine, 1,0 mg/l of AgNO<sub>3</sub> to *in vitro*, and increase the content of Fe-chelate to 41,67 mg/l. At the root formation stage it is necessary to add 1,0 mg/l of AgNO<sub>3</sub>, 1,0 g/l of activated carbon and 0,2–0,5 mg/l of indolyl butyric acid. **Conclusions.** To sum up, it is possible to achieve the mass reproduction of *S. viminalis* and its hybrid 'Inger' for the energy plantations creation in short term by using the Plant Preservative Mixture decontaminant, the hormone benzylaminopurine and the modifying changes to the medium of Murashige and Skoog's *in vitro*.

*Key words:* *Salix viminalis*, 'Inger', willow, explants, decontaminate, hormone, benzylaminopurine, Fe-chelate.

**Вступ/Introduction.** На сьогоднішній день плантаційний спосіб вирощування деревних порід є загальноприйнятою світовою практикою підвищення ефективності ведення лісового господарства. Для підвищення продуктивності та рентабельності плантаційного способу ведення лісового господарства необхідно використовувати високоякісний садивний матеріал, вироблений на основі відібраних за продуктивністю форм деревних порід. Перспективним способом отримання такого садивного матеріалу є методи біотехнології. Найбільшу частку у світовому обсязі біотехнологічної продукції мають США 42%, країни Євросоюзу — 22%, Китай — 10%, Індія — 2%, а Україна — менше 1% (Shestibratov, Miroschnikov, 2007).

Енергетична безпека України в останнє десятиліття є досить актуальним питанням як в промисловості так і в науці. Одним з ефективних шляхів вирішення проблеми енергозабезпечення є використання паливних брикетів на основі рослинної біомаси. Перспективним джерелом одержання біомаси є деревина від плантаційного лісовирощування швидкорослих деревних порід. На даний час в Україні створення високопродуктивних вербових плантацій знаходиться лише на початковому етапі розробки і впровадження.

Мікроклональне розмноження рослин роду *Salix* L. поряд із традиційними способами розмноження викликає значний інтерес. Сьогодні зусилля багатьох дослідників спрямовані на розробку рентабельних і швидких технологій мікроклонального розмноження деревних видів рослин. Культура ізольованих тканин і органів *in vitro* має ряд переваг. Це перш за все перспективний метод розмноження оздоровлених клонів і гібридних форм, стійких до хвороб, токсинів, гербіцидів, засоленості ґрунту. Мікроклональне розмноження здатне давати високий коефіцієнт розмноження, що за розрахунками становить 104–106 шт. клонів за рік, тоді як за вегетативного способу — 5–100 шт. та сприяє одержанню оздоровленого генетично однорідного садивного матеріалу (Krugljak et al., 2015). В умовах *in vitro* можна клонувати рослини, які мають низьку ефективність розмноження вегетативним способом, а весь процес мікроклонального розмноження досить мініатюрний і дає можливість розмножувати рослини упродовж року та добирати їх за бажаними ознаками в умовах *in vitro*. Мікроклональне розмноження не передбачає залучення великої кількості донорного рослинного матеріалу та уможливає його тривале збереження

в умовах наднизьких температур у рідкому азоті за для створення колекцій і банків генетичних ресурсів рослин (Melnychuk et al., 2003; Kushnir, Sarnac'ka, 2005; Sergeev, Shurgin, 2009; Mashkina et al., 2010; Krugljak et al., 2015).

Перші досліді методом культури ізольованих тканин і органів рослин *in vitro* розпочалися в 30-ті роки ХХ ст. Ф. Уайтом у США та Р. Готре у Франції. Зокрема, Р. Готре, досліджуючи камбій стебел деревних, отримав калюсні культури від камбіо верби, які вирощувались *in vitro* понад 50 років (Melnychuk et al., 2003). Сучасні технології мікроклонального розмноження розроблені для понад 200 видів деревних рослин, які розмножені *in vitro* (Kushnir, Sarnacka, 2005; Krugljak et al., 2015). Нині роботи в галузі біотехнології рослин, зокрема, культури клітин, тканин та органів *in vitro*, продовжуються в США, Англії, Франції, Німеччині, Ізраїлі, Росії тощо (Melnychuk et al., 2003).

У зв'язку з великою різноманітністю і розширенням господарського використання рослин роду *Salix* стали актуальними наукові дослідження спрямовані на розроблення технологій їх мікроклонального розмноження як в Україні так і за кордоном. Значні досягнення у питаннях мікроклонального розмноження рослин родини *Salicaceae* зроблені у Російській Федерації, де зосередна майже половина світових ресурсних запасів родини *Salicaceae* (Shestibratov, Miroschnikov, 2007). Технологію мікроклонального розмноження для багатьох рослин роду *Salix* розроблено досить добре зарубіжними дослідниками Md. I. Khan, N. Ahmad, M. Anis (2011), S. Lyuya, A. Lima, A. Merkle (2006), P. E. Read, C. M. Bavougian (2013).

Вплив фізичних чинників на мікророзмноження, і, зокрема, на консистенцію живильного розчину досліджували D. Agrawal, K. Gebhardt, (1994), В. Шевелуха та ін. (Sheveluha et al., 1998). Вони довели, що використання рідкого живильного середовища WPM із 0,2 мг·л<sup>-1</sup> БАП призводило до оводнення мікропагонів гібриду *S. fragilis* × *S. lisproclados*. У США проводили дослідження генетичної трансформації деревних видів *Salix* за участю *Agrobacterium* з метою набуття стійкості до важких металів для фітореMediaції забруднених ґрунтів (Kuzovkina, Martin, 2003; Lyuya et al., 2006).

Рослини *in vitro*, відрізняються від традиційно розмножених рослин рядом анатомічних ознак. Тому на етапі адаптації рослин розмножених методом культури

клітин, тканин та органів виникають ускладнення, порівняно з рослинами, отриманими *in vivo* (Burgutin, 1991). Універсальні способи адаптації рослин-регенерантів до умов довкілля відсутні. Але розроблені методологічні підходи, які використовують для поліпшення адаптації деревних рослин після *in vitro*. В Україні питанням розмноження верб у культурі *in vitro* займалися О.Ю. Чорнобров та ін. (Chornobrov, 2011; Chornobrov et al., 2013), зокрема, вони досліджували ступеневу адаптацію рослин-регенерантів *S. viminalis* до умов *ex vitro*.

Перспективними за фізико-географічних умов України є гібриди верби прутовидної (*S. viminalis* L.), щорічна продуктивність якої на плантаціях складає 49 т/га (Fuchylo, Sbytna, 2009). Тому метою наших досліджень була розробка методів для зберігання без перезараження, довготривалого підтримання в колекції *in vitro* та швидкого розмноження в промислових об'ємах садивного матеріалу *S. viminalis* L. і її гібридний сорт 'Inger' (*S. viminalis* × *S. triandra* L.).

**Матеріали і методи/Materials and methodology.** Культивували *S. viminalis* L. і її гібридний сорт 'Inger' на живильному безгормональному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга у власній модифікації зі змінами в кількості бензиламінопурину, хелатного заліза, активованого вугілля за загальноприйнятими методиками (Kushnir, Sarnac'ka, 2005). Додаткові деконтамінанти випробували на фоні обробки експлантів гіпохлоритом натрію. Ефективність процесу

деконтамінації ( $E_1$ ) визначали (Pat. RF2324338..., 2008) за кількістю неінфікованих експлантів після стерилізації ( $c$ ) в відсотках до вихідної кількості експлантів, що стерилізувалися ( $s$ ):

$$E_1 = \frac{c}{s} 100$$

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за методикою Р. Фішера (Dosphehov, 1985).

**Результати та обговорення/Results and Discussion.** Вплив стерилізуючої речовини залежить від її виду, та виду рослин. Крім цього успішне проходження процесу залежить від щільності та чутливості тканин, що контактують із антисептиком. Вдалий вибір стерилізуючого агента полягає в тому, щоб він був дуже активним стосовно всіх мікроорганізмів і, водночас, найменше пошкоджував тканини рослини.

Візуально основу контамінантів становили бактерії. Проте додавання ефективного на інших культурах деконтамінанта антибіотика хлорамфеніколу (Mackevych et al., 2012) виявилось так само як і фунгіциду Превікуру Енерджі 840 SL малоефективним (табл. 1.). Складність деконтамінації залежала від виду рослин. За усіма варіантами деконтамінатів нижчою ефективність стерилізації була у гібридної верби сорту 'Inger'. Контроль та всі інші варіанти за виключенням варіанту із застосуванням РРМ (РРМ — Plant Preservative Mixture) (Miyazki et al., 2010) були, на нашу думку, технологічно не прийнятними.

**Таблиця 1. Ефективність застосування додаткових деконтамінантів при стерилізації експлантів**  
**Table 1. Efficiency of additional decontaminant application in the course of sterilization of explants**

Вид додаткового деконтамінанта/Type of additional decontamination	Спосіб застосування Application method	Ефективність стерилізації, % Sterilization efficiency, %	
		'Inger'	<i>S. viminalis</i>
Контроль/Control	Обробка експлантів гіпохлоритом натрію/Processing of explants with sodium	6,6±1,2	19,6±3,3
Хлорамфенікол/Chloramphenicol	Додавання у живильне середовище Adding to the nutrient culture medium	8,6±2,2	22,5±2,1
Превікур Енерджі 840 SL Previcur energy 840 SL	Замочування експлантів в 1% розчині/Soaking of explants in 1% solution	7,4±1,9	20,6±4,3
РРМ/Plant Preservative Mixture	Додавання у живильне середовище Adding to the nutrient culture medium	90,3±5,4	96,1±4,1

Як відомо, основними перевагами мікроклонального розмноження є високі коефіцієнти розмноження вільного від збудників хвороб рослин садивного

матеріалу. Основними детермінантами пробудження паузушних бруньок є цитокініни. Діапазон практичного використання цих речовин дуже вузький,

оскільки у малих концентраціях вони не діють, а у більших є фітотоксичними. Тому при введенні *in vitro* нового виду, навіть сорту рослин, постає виробнича потреба підбору оптимальної концентрації цього гормону (Kushnir, Sarnac'ka, 2005).

Для досліджуваних нами об'єктів серед концентрацій від 0,1 до 2,0 мг/л оптимальною була в 0,2 мг/л. Менша концентрація не відрізнялася

від контролю. Для рослин було характерне інтенсивне коренеутворення (табл. 2, рис. 1.). А за вищих концентрацій зменшувалися як розміри регенерантів, так і коефіцієнт розмноження. Високі концентрації зумовлювали появу вітрифікованих рослин, які за перенесення на середовище без цього гормону набували типового для рослини стану (рис. 2).

**Таблиця 2. Вплив концентрації бензиламінопурину на регенерацію рослин верби на 30-й день культивування**  
**Table 2. Effect of benzylaminopurine concentration on regeneration of willow plants on the 30<sup>th</sup> day of cultivation**

Концентрація, мг/л Concentration, mg/l	Висота регенерантів, мм/Height of regenerators, mm		Довжина коренів, мм Root length, mm		Коефіцієнт розмноження/Reproduction factor		Гіпергідратованих рослин, %/Percentage of hyper-hydrated plants, %	
	'Inger'	<i>S. viminalis</i>	'Inger'	<i>S. viminalis</i>	'Inger'	<i>S. viminalis</i>	'Inger'	<i>S. viminalis</i>
—	105	49	183	27	3,3	2,8	2	1
0,1	121	50	185	23	5,6	3,1	3	2
0,2	104	41	172	11	6,2	4,4	2	2
0,3	58	36	13	3	3,2	2,9	6	3
0,5	51	19	4	—	2,7	1,8	63	19
1,0	42	20	—	—	1,1	0,6	91	26
2,0	43	11	—	—	0,6	0,3	95	72
HIP <sub>0,05</sub> /LSD <sub>0,05</sub>	—	—	—	—	0,3	0,4	—	—

Детермінантний вплив БАП залежав від кількості хелатного заліза (табл. 3.). Збільшення цього компонента в 1,5 рази без додавання цитокініну (БАП) зумовлювало збільшення розмірів листкових пластинок та набуття ними інтенсивно зеленого забарвлення. В поєднанні із невеликими кількостями БАП (0,1–0,2 мг/л) така концентрація Fe-хелату збільшувала коефіцієнт розмноження із 3,3 до 7,8. Це дозволило отримати високий коефіцієнт розмноження за меншої кількості БАП. Подальше збільшення як хелатного заліза так і БАП обумовлювало збільшення кількості вітрифікованих рослин.

Для захисту від вітрифікації нами застосовано поєднання двох прийомів — збільшення віку материнських рослин із 30 до 45 днів і додавання в живильне середовище 1,0 мг/л AgNO<sub>3</sub>. Це дозволило в послідовному знизити кількість вітрифікованих рослин на кращому варіанті (кількість Fe-хелату — 1,5 та 0,2 мг/л БАП) із 31% до 4%.

Враховуючи вище сказане для масового мікроклонально розмноження гібридної верби сорту

'Inger' зроблені наступні зміни в середовищі: вміст Fe-хелату збільшено в 1,5 рази, кількість БАП 0,2 мг/л та додавання 1 мг/л AgNO<sub>3</sub>.

Задля отримання рослин-регенерантів, які успішно пройдуть постасептичну адаптацію випробувано такі детермінанти ризогенезу: ауксин — індолілмасляна кислота та активоване вугілля (табл. 4, рис. 3) на фоні виключення із складу середовища БАП та додавання 1,0 мг/л AgNO<sub>3</sub>. Встановили, що рослини навіть у контрольному досліді формували на 30-й день культивування поодинокі (в середньому 1,2 шт. на рослину) корені середньою довжиною в 56 мм. Додавання в живильне середовище 1 г/л активованого вугілля збільшувало довжину коренів до 109 мм та їх кількість до 2,3 шт. на рослину. Найбільша довжина коренів була за сумісного застосування активованого вугілля та 0,2 мг/л ІМК, а найбільшою кількістю коренів в випадку із додаванням активованого вугілля та 0,5 мг/л ІМК. За порівняння двох концентрацій активованого вугілля в один і два грами на літр не встановлено суттєвих відмінностей між ними.



Рисунок 1. Вплив концентрації бензиламінопурину на особливості регенерації експлантів верби: а) сорт 'Inger' без бензиламінопурину; б) сорт 'Inger' за концентрації бензиламінопурину 0,2 мг/л; в) сорт 'Inger' (зліва), *S. viminalis* – (справа) за концентрації бензиламінопурину 1,0 мг/л  
 Picture. 1. Influence of the concentration of benzylaminopurine on the regeneration peculiarities of willow explants: а) 'Inger' cultivar without benzylaminopurine; б) 'Inger' cultivar with the benzylaminopurine concentration 0.2 mg / l; с) 'Inger' cultivar (left), *S. viminalis* — (right) with the benzylaminopurine concentration in 1,0 mg / l.

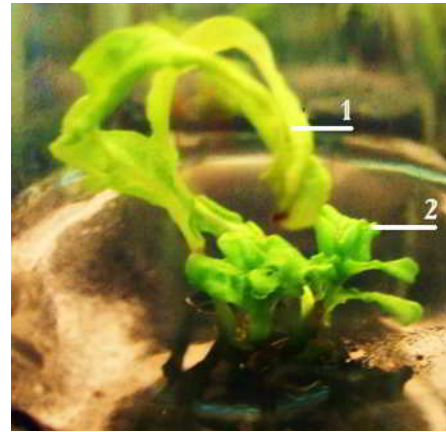


Рисунок 2. Відновлення вітрифікованих рослин на середовищі без цитокінінів: 1 — старі вітрифіковані листки; 2 — новоутворенні нормальні листки.  
 Picture 2. Restoration of vitrified plants in the cytokinin-free *in vitro*: 1 — old vitrified leaves.

Слід зауважити, що рослини, вирощені *in vitro*, відрізнялися у відкритому ґрунті шляхом живцювання за анатомічними показниками. Зокрема, вони мали дуже тонку кутикулу, невелику кількість механічних тканин, тонкі листки і дуже сильно розвинені міжклітинники. Натомість провідні пучки були розвинені слабо і щільні прориди функціонували у них обмежено.

**Таблиця 3. Особливості росту і розвитку регенерантів гібридної верби сорту 'Inger' за різних концентрацій бензиламінопурину та Fe-хелату**  
**Table 3. Peculiarities of growth and development of hybrid willow grape cultivar 'Inger' at various concentrations of benzylaminopurine (BAP) and Fe-chelate**

Концентрація БАП, мг/л/ Concentration BAP, mg/l	Висота регенерантів, мм/ Height of regenerators, mm			Довжина коренів, мм/ Root length, mm			Коефіцієнт розмноження/ Reproduction factor			Гіпергідратованих рослин, %/ Percentage of hyperhydrated plants, %		
	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0
Кількість Fe-хелату* Amount of Fe-chelate *	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5	2,0
—	105	112	72	183	189	116	3,3	4,2	5,8	2	3	19
0,1	121	130	51	185	103	51	5,6	7,6	9,2	3	3	27
0,2	104	103	36	172	23	7	6,2	7,8	9,5	2	5	31
0,3	58	47	12	13	9	5	3,2	8,6	9,9	6	7	82
0,5	51	36	7	4	3	1	2,7	1,3	1,1	63	93	100
HIP <sub>0,05</sub> /LSD <sub>0,05</sub>	—	—	—	—	—	—	0,2	0,3	0,2	—	—	—

\* Кількість Fe-хелату за "1,0" взято згідно пропису Мурасіге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) FeSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 27,78 мг/л та відповідну кількість ЕДТА-Na<sub>2</sub>; "1,5" збільшено 1,5 рази згідно цього пропису (27,78 мг/л × 1,5 = 41,67 мг/л).  
 \* The amount of Fe-chelate for "1,0" is taken according to the Murashige-Skoog formulation (Murashige, Skoog, 1962) FeSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O 27,78 mg/l and the corresponding amount of NaEDTA (ethylenediaminetetra acetic acid); "1,5" is increased in 1,5 times according to this medium (27,78 mg/l × 1.5 = 41,67 mg / l).

Таблиця 4. Особливості росту і розвитку регенерантів гібридної верби сорту 'Inger' за різних концентрацій індолілмасляної кислоти та активованого вугілля на 30 день культивування

Table 4. Growth and development peculiarities of the hybrid willow of 'Inger' cultivar regenerants in different concentrations of indolyl butyric acid (IBA) and activated carbon on the 30<sup>th</sup> day of cultivation

Концентрація ІМК, мг/л Concentration of IBA, mg/l	Висота регенерантів, мм Height of regenerants, mm			Довжина коренів, мм/ Length of roots, mm			Кількість коренів, шт. Number of roots, pc.		
Кількість активованого вугілля, г/л/ Number of activated carbon g/l	—	1,0	2,0	—	1,0	2,0	—	1,0	2,0
—	59	78	76	56	102	104	1,2	2,3	2,4
0,2	63	69	66	71	168	162	2,6	9,1	9,0
0,5	51	56	58	65	112	115	2,8	9,6	9,5
1,0	38	39	37	63	102	106	1,9	2,6	2,7
2,0	21	29	28	41	57	53	1,6	2,0	2,1
HIP <sub>0,05</sub> /LSD <sub>0,05</sub>	—	—	—	—	—	—	0,1	0,2	0,2



Рисунок 3. Вплив індолілмасляної кислоти на ризогенез гібридної верби сорту 'Inger' на фоні активованого вугілля (1,0 мг/л): а – без ІМК; б – 0,2 мг/л ІМК.

Picture. 3. Influence of indolyl butyric acid on the hybrid willow of the 'Inger' cultivar on the background of activated carbon (1,0 mg/l): a – without IBA; b – 0,2 mg/l IBA

**Висновки/Conclusions.** В результаті проведеного експерименту встановлено, що при введенні в культуру *in vitro* *S. viminalis* і її гібридного сорту 'Inger' стерилізацію доцільно проводити шляхом додавання у середовище деконтамінанту Plant Preservative Mixture. Інтенсивне коренеутворення і максимальний коефіцієнт розмноження для *S. viminalis* складає 4,4, а для її сорту 'Inger' – 6,2 за концентрації бензиламінопурину 0,2 мг/л.

Виходячи із результатів експерименту пропонуємо наступні модифікаційні зміни пропису Мурасіге і Скуга:

- на етапі розмноження додавання в середовище 0,2 мг/л БАП, 1 мг/л AgNO<sub>3</sub>, та збільшення вмісту Fe-хелату до 41,67 мг/л;
- на етапі коренеутворення додавання 1,0 мг/л AgNO<sub>3</sub>, 1,0 г/л активованого вугілля та 0,2–0,5 мг/л ІМК.

Таким чином, застосовуючи деконтамінант Plant Preservative Mixture і гормон бензиламінопурин та модифікаційні зміни пропису середовища Мурасіге і Скуга можна досягти у короткий термін масового розмноження *S. viminalis* і її гібридного сорту 'Inger' для створення енергетичних плантацій.

## Подяки/Acknowledgement

Автор статті висловлює подяку доценту кафедри лісівництва, ботаніки і фізіології рослин

Білоцерківського НАУ Мацкевичу В'ячеславу Вікторовичу за допомогу у проведенні експериментальної частини досліджень.

## Список посилань/References

Agrawal, D., Gebhardt, K. (1994). Rapid micropropagation of hybrid willow (*Salix*) established by ovary culture. *Plant Physiol.* 143. P. 763–765.

Burgutin A. B. (1991). Mikroklonal'noe razmnozhenie vinograda V kn.: *Biologija kultivirovaniya kletok i biotehnologija rastenij*. Moskva: Nauka P. 216–220. (in Russian).

Chornobrov O. Ju. (2013). Biotehnologichni aspekty rozmnozhenja roslyn rodyny Verbovi (*Salicaceae* Mirb.) *in vitro*: avtoref. dys. na zdobuttja nauk. stupenja kand. s.-g. nauk: 03.00.20 "Biotehnologija". Kyiv, 20 p. (in Ukrainian).

Chornobrov, O. Ju., Kljuvadenko, A. A., Pinchuk, A. P., Maksymchuk, N. V., Melnychuk, M. D. (2011). Vydospecyficzni osoblyvosti stupinchastoi' adaptacii' roslyn-regenerantiv verby prutovydnoi' (*Salix viminalis* L.) do umov *in vivo*. *Naukovi dopovidi NUBiP*. № 6 (28) Rezhym dostupu do zhurn.: [http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011\\_6/11kaa.pdf](http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_6/11kaa.pdf) (Accessed 10 June 2018). (in Ukrainian).

Dospehov, B. A. (1985). *Field experiment method* [With basics of statistical processing of research]. Moscow: Agropromizdat, 351 p. (in Russian).

Fuchylo, Ja. D., Sbytina, M. V. (2009). *Verby Ukrai'ny (biologija, ekologija, vykorystannja)*. Kyiv: Logos, 2009. 200 p. (in Ukrainian).

Khan, I., Ahmad, N., Anis, M. (2011). The Role of Cytokinins on *in vitro* Shoot Production in *Salix tetrasperma* Roxb.: a Tree of Ecological Importance. *Tree Structure and Function*. Vol. 25, № 4. P. 577–584.

Krugljak, Ju. M., Chornobrov, O. Ju., Bilous, S., Ju. (2015) Biotehnologija rozmnozhenja ta vyroshhuvannja roslyn rodyny verbovi dlja energetychnyh plantacij: naukova robot. Kyiv, 202 p. (in Ukrainian).

Kushnir, G. P., Sarnac'ka, V. V. (2005) *Mikroklonal'ne rozmnozhenja roslyn: teorija i praktyka*. Kyiv: Naukova dumka, 272 p. (in Ukrainian).

Kuzovkina, Yu. A., Martin, F. Q., (2005). Willows Beyond Wetlands: Uses of *Salix* L. Species for Environmental Projects. *Water, Air, and Soil Pollution* 162.1–4. P. 183–204.

Lyyra, S., Lima, A., Merkle, A. (2006). *In vitro* Propagation of *Salix nigra* from Agventitious Shoot. *Tree Physiology*. Vol. 26. P. 969–975.

Mashkina, O. S., Tabackaja, T. M., Shestibratov, K. A. (2010). Metod klonal'nogo mikrorazmnozhenija razlichnyh vidov i gibridov ivy. *Biotehnologija*. № 1. P. 51–59 (in Russian).

Mackevych, V. V., Filipova, L. M., Stadnyk, A. P. (2012) Osoblyvosti vvedennja *in vitro* ta klonal'nogo mikro-rozmnozhenja Hosta Tratt. *Agroekologichnyj zhurnal*. Vyp. 4. P. 79–82. (in Ukrainian).

Melnichuk, M. D., Novak, T. V., Kunah, V. A. (2003). *Biotehnologija roslyn*. Kyiv: Poligrafkonsalting, 516 p. (in Ukrainian).

Miyazaki, J. Tan, B., Errington, S. (2010). Eradication of endophytic bacteria via treatment for axillary buds of *Petunia hybrida* using Plant Preservative Mixture (PPMTM). *РСТОС*, 102(3). P. 365–372.

Murashige T., Skoog F. (1962) Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plantarum*. Vol. 15. № 3. P. 473.

Pat. RF2324338 (2008) Sposob poluchenija biomasy *in vitro*: / Lamberova M. Je.; Hmelev V.N.; Lamberova A.A.; Hmeleva A.N.; Kosolapova A.S.; vlasnik patentu Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovaniya «Altajskij gosudarstvennyj tehniceskij universitet im. I.I. Polzunova». № 2324338; zajavl. 25.01.2007; opubl. 20.05.2008, *Bjul.* № 14. 7 p. (in Russian).

Read, E. P., Bavougian, C. M. (2013) *In vitro* Rejuvenation of Woody Species. *Protocols for Micropropagation of Selected Economically Important Horticultural Plants. Methods in Molecular Biology*. Vol. 994. P. 383–395.

Sheveluha, V. S., Kalashnikova, E. A., Degtjarev, S. V. (1998) *Selskohozjajstvennaja biotehnologija*. Moskva: Vysshaja shkola, 416 p. (in Russian).

Sergeev, R. V., Shurgin, A. I. (2009) Razmnozhenie *in vitro* genotipov ivy s povyshennym soderzhanijem



biologicheski aktivnyh veshhestv dlja plantacionnogo vyrashhivaniya na salicin vyjavleny sochetaniya i koncentracii fitogormonov v srede kul'tivirovaniya. *Lesnoj zhurnal*. 2009. № 6. P. 40–45. (in Russian).

Shestibratov, K. A., Miroshnikov, A. I. (2007). Perspektivy ispol'zovaniya tehnologii klonal'nogo mikrorazmnozheniya v lesnom hozjajstve dlja massovogo proizvodstva posadochnogo materiala cennyh genotipov drevesnyh rastenij *Integral*. № 1. P. 74–75. (in Russian).

УДК 581.16:581.165:581.165.1:581.165.72

## Вегетативне розмноження видів роду *Rhus* L. в умовах Правобережного Лісостепу України

Тетяна Д. Ковальчук

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, м. Умань, Україна, e-mail: rhus2017@gmail.com

ORCID ID-0000-0002-8545-8496

### Реферат.

**Мета.** Дослідження здатностей до вегетативного розмноження рослин роду *Rhus* L. зумовлює пошук ефективних способів розмноження та дає можливість передбачити щільність заселення виду. **Методи.** Вегетативне розмноження здійснювали згідно рекомендацій О. В. Білик (1993), Hartmann і Kester (1972) та методичних рекомендацій з розмноження деревних декоративних рослин Ботанічного саду НУБіП України (2008). **Результати.** Встановлено, що регенераційна здатність *R. typhina* L., *R. glabra* L., *R. trilobata* Nutt. та *R. aromatica* Ail. в умовах *in vitro* без збереження стерильних умов оцінена в один бал з трьох можливих. Даний бал вказує на низький потенційний відсоток вкорінення рослин. Тому нами використані різні способи вегетативного розмноження. **Висновки.** Найкращим способом вегетативного розмноження рослин *R. typhina* та *R. glabra* є розмноження кореневими живцями та кореневою порослю, а *R. trilobata* та *R. aromatica* — відсадками, що забезпечує поширення видів.

**Ключові слова:** стеблові живці, кореневі живці, відсадки, коренева поросль.

## Vegetative Propagation of the Genus *Rhus* L. Species in Conditions of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine

Tetiana D. Koval'chuk

The National Dendrological Park "Sofiyivka" of NAS of Ukraine, Uman, Ukraine, e-mail: rhus2017@gmail.com

ORCID ID 0000-0002-8545-8496

### Abstract.

**Aims.** The study of the vegetative propagation ability of the genus *Rhus* L. plants determines the search for effective methods of reproduction and makes it possible to predict the density of the species. **Methods.** The vegetative reproduction was carried out according to the guidance of E. V. Bilyk (1993), Hartmann and Kester (1972) and guidelines on reproduction of woody ornamental plants of the Botanical Garden of NULES of Ukraine (2008). **Results.** It was stated